



Российское Агентство
по патентам и товарным знакам

(19) RU (11) 2135193 (13) C1
(51) 6 A 61 K 35/39

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

1

(21) 97117823/14 (22) 28.10.97
(46) 27.08.99
(71) Скалецкий Николай Николаевич
(72) Скалецкий Н. Н., Шумаков В. И.
(73) Скалецкий Николай Николаевич, Шумаков Валерий Иванович
(98) 141570, Московская обл., пос. Менделеево, ул. Пионерская, д. 4, кв. 11, Скалецкому Н. Н.
(56) SU 1119696 A, 23.10.84. SU 1412061 A, 07.09.90. RU 2069563 A, 27.11.96.
(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МАТЕРИАЛА, СОДЕРЖАЩЕГО БЕТА-КЛЕТКИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ БОЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕНОМЕНА МИГРАЦИИ КЛЕТОК, МАТЕРИАЛ, СОДЕРЖАЩИЙ БЕТА-КЛЕТКИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ БОЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА МЕТОДОМ ЕГО ТРАНСПЛАНТАЦИИ
(57) Изобретение относится к области медицины, а именно к способу получения материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы новорожденных кроликов, и к трансплантологическим

2

методам лечения сахарного диабета, преимущественно инсулинозависимого, путем трансплантации бета-клеток, полученных с использованием феномена их миграции. Используют поджелудочную железу млекопитающего, при этом извлеченную поджелудочную железу промывают, разрезают ее на фрагменты и засевают полученным материалом культуральные матрасы, добавляя культуральную (ростовую) среду и сыворотку млекопитающих, затем обеспечивают режим, при котором более 90% бета-клеток свободно мигрируют из культивируемых фрагментов поджелудочной железы на дно культурального матраса, для чего осуществляют соответствующий режим инкубации. Способ лечения сахарного диабета заключается в том, что производят трансплантацию материала, содержащего бета-клетки, полученного с использованием феномена их миграции, при этом культура клеток может быть трансплантирована в различные органы и ткани. Изобретение обладает простотой и высоким выходом неповрежденных бета-клеток, а также повышением эффективности лечения. 3 с. и 11 з. п. ф-лы.

1

2

3

Изобретение относится к области медицины, а именно к способу получения материала, содержащего бета-клетки (β -клетки) поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом из поджелудочной железы новорожденных кроликов, материалу, содержащему бета-клетки поджелудочной железы, полученному новым способом, и к трансплантологическим методам лечения сахарного диабета, преимущественно инсулинозависимого, путем трансплантации β -клеток, полученных с использованием феномена их миграции.

Известен способ получения материала, содержащего островковые клетки (β -клетки) поджелудочной железы внутриутробных плодов человека и животных (плодов свиньи, плодов крупного рогатого скота). Способ заключается в том, что поджелудочную железу внутриутробных плодов человека, крупного рогатого скота или свиньи извлекают в стерильных условиях, промывают в растворе Хенкса с антибиотиками, разрезают на фрагменты размером 2 – 3 мм, которые вновь промывают раствором Хенкса с антибиотиками. Затем ткань погружают в 0,1 – 0,3% раствор коллалитина (препарат, содержащий коллагеназу) или смесь равных частей 0,1% раствора коллалитина и 0,1% раствора трипсина на 20 – 30 минут при температуре 20 – 22. Далее удаляют раствор ферментов, переносят материал в 0,3% раствор трипсина, помещают на магнитный размешиватель и подвергают обработке в течение 15 – 20 минут. Делают два – три слива раствора трипсина со взвешенными в нем одиночными клетками и небольшими клеточными комплексами в центрифужные флаконы, а затем центрифугируют и осадок ресуспендируют. Полученные не осевшие клетки и клеточные комплексы пофракционно отделяют и засевают ими культуральные матрасы.

Инкубацию проводят при температуре 36 – 37°С в течение 8 – 10 дней с заменой ростовой среды каждые 3 – 4 дня. При этом был получен материал, подавляющую часть которого составляют β -клетки (см. Экспериментальные основы клинической трансплантации островковых клеток / Шумаков В. И., Блюмкин В. Н., Скалецкий Н. Н., Шальнев Б. И. в сборнике Трансплантация островковых клеток поджелудочной железы (очерки). М., "Канон", 1995, с. 38 – 42).

К недостаткам известного способа относится значительная потеря островковых клеток в процессе многоступенчатой обработки материала, в частности, при нахождении на магнитном размешивателе и при центрифугировании, а также при фракционном осаждении клеточных комплексов и одиночных клеток.

Известен материал островковых клеток поджелудочной железы, полученный указанным выше способом (см. там же).

К недостаткам известного материала остров-

ковых клеток поджелудочной железы относится ее сниженная биологическая активность из-за недостатков способа ее получения, в процессе которого часть клеток уничтожается, а часть травмируется при нахождении на магнитном размешивателе и при центрифугировании.

Известны различные способы лечения сахарного диабета путем свободной трансплантации островковых клеток поджелудочной железы, в частности, путем введения в печень, через воротную вену или ее ветви, в пульпу селезенки, в полость брюшины, в специально создаваемый мышечный карман или внутримышечно (см. Клиническая свободная трансплантация островковых клеток поджелудочной железы больным сахарным диабетом / Шумаков В. И., Блюмкин В. Н., Скалецкий Н. Н., Игнатенко С. Н., Галибин О. В. – в указанном выше сборнике – с. 122 – 311).

Достоинством перечисленных методов введения материала, содержащего островковые клетки поджелудочной железы, является длительная стабилизация течения исходно лабильного заболевания в сочетании со снижением потребности в экзогенном инсулине. К недостаткам можно отнести их сложность и возможность возникновения осложнений. Наиболее простым является последний из упомянутых выше способов. Кроме того, для достижения положительного результата важное значение имеет качественная характеристика трансплантируемого материала, определяемая, в основном тем, каким способом получен вводимый материал, содержащий островковые клетки.

Ближайшим аналогом способа получения материала, содержащего островковые клетки поджелудочной железы, является способ, описанный в патенте Российской Федерации N 2069563, A 61 K 35/39, опубл. в 1996 г. Согласно этому способу предварительно извлекают поджелудочную железу новорожденного кролика и погружают ее в холодный раствор Хенкса с добавлением антибиотиков. Удаляют капсулу поджелудочной железы и прослойки соединительной ткани с крупными разветвлениями выводных протоков и кровеносными сосудами. Затем поджелудочную железу разрезают сосудистыми ножницами на фрагменты размером 2 – 3 мм и многократно промывают раствором Хенкса с антибиотиками, после чего заливают 0,25% раствором коллалитина, выдерживают 10 минут при

температуре 20 – 22°С. Следующей операцией является освобождение обрабатываемой ткани от действия ферментативного препарата путем многократного отмывания ее раствором Хенкса и средой 199. Подготовленный материал измельчают до получения микрофрагментов размером 0,1 – 0,5 мм. Полученная взвесь микрофрагментов с добавлением в нее культуральной (ростовой) среды и сыворотки крупного рогатого скота засеивается в культуральные матрасы. Инкубацию культур проводят в термостате при 37°С в течение двух суток и

при 24°С в течение семи – восьми суток. Замена закисленной и содержащей балластные вещества ростовой среды на свежую производится каждые двое–трое суток.

К недостаткам ближайшего аналога относится необходимость использования фермента – коллалитина для разрыхления исходного материала путем лизиса коллагеновых волокон. Коллалитин повреждает β-клетки и снижает выход продуцируемой культуры клеток. Кроме того, несмотря на достаточно высокое содержание β-клеток в полученной культуре, недостатком данного способа является низкий их выход из исходного материала, из которого удается извлечь не более 40% от общего числа содержащихся в нем β-клеток.

Ближайшим аналогом изобретения – материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, является материал, полученный указанным выше способом – ближайшим аналогом (см. там же).

К недостаткам известного материала островковых клеток поджелудочной железы можно отнести недостатки, обусловленные способом его получения, что приводит к сниженной биологической активности при относительно сложном и дорогом получении с использованием фермента – коллалитина.

Ближайшим аналогом изобретения – способа лечения сахарного диабета является способ по патенту Российской Федерации N 2004247, МПК A 61 K 35/39, опубл. в 1995 г. Согласно этому способу производят имплантацию клеток доброкачественной инсулиномы человека, при этом материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы, имплантируют в прямую мышцу живота в виде взвеси на физрастворе.

К недостаткам известного способа можно отнести некоторую сложность получения исходного материала – клеток доброкачественной инсулиномы, а также проблемы, возникающие в связи с борьбой с преобладанием роста фибробластов при использовании перевиваемой культуры β-клеток, и необходимость точного контроля производительности инсулина конкретной фракцией культуры клеток инсулиномы, что связано с тем, что в качестве имплантата используются опухолевые клетки, функциональная активность которых может существенно варьироваться.

Задачей изобретения, относящегося к способу получения материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, является упрощение способа, увеличение гарантированно высокого процента (до 90%) извлечения неповрежденных, β-клеток из исходного материала и удешевление за счет отказа от применения фермента, содержащего коллагеназу.

Задачей изобретения, относящегося к мате-

риалу, содержащему бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, является получение материала с высокой биологической активностью.

Задачей изобретения, относящегося к способу лечения сахарного диабета, является повышение эффективности лечения, в частности, снижение потребности в инсулине на длительный период и торможение прогрессирования вторичных осложнений.

Поставленная задача решается тем, что при получении материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, используют поджелудочную железу новорожденного кролика, плода человека или другого млекопитающего, при этом извлеченную поджелудочную железу промывают в растворе Хенкса с добавлением антибиотиков, разрезают ее на фрагменты и засевают полученным материалом культуральные матрасы, добавляя культуральную (ростовую) среду и сыворотку млекопитающих, затем обеспечивают режим, при котором β-клетки свободно мигрируют из культивируемых микрофрагментов поджелудочной железы на дно культурального матраса, для чего осу-

ществляют инкубацию при температуре 35 – 40°С в продолжение от двух суток до шести недель с однократным или многократным снижением тем-

пературы до 4 – 25°С и выдержкой при пониженной температуре, а также с временным однократным или периодическим снижением концентрации сыворотки, затем собирают бета-клетки со дна культурального матраса и получают материал для трансплантации.

Поставленная задача для материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, решается за счет использования указанного выше способа ее получения.

Поставленная задача для способа лечения сахарного диабета решается при осуществлении, в процессе которого производят трансплантацию материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, полученный с использованием феномена миграции β-клеток, при этом материал может быть трансплантирован в различные органы и ткани: внутримышечно, в частности, в прямую мышцу живота, в печень (непосредственно в паренхиму или через воротную вену или ее ветви), в пульпу селезенки, в селезеночную вену, в полость брюшины, в специально создаваемый мышечный карман, в паренхиму печени или в большой сальник.

Принципиальным отличием способа получения материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, в соответствии с данным изобретением является использование феномена миграции, β-клеток из фрагментов поджелудочной железы (см. Абламуниц В. Г., Кирсанова Л. А. Феномен миграции β-клеток in vitro из псевдо-

островков крупного рогатого скота. "Бюлл. эксперим. биол. мед.", 1992, N 6, с. 658 – 660).

Описанная в указанной работе методика получения β -клеток предназначена для лабораторных целей и не пригодна для получения материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, удовлетворяющих требованиям, предъявляемым для материалов, используемых в лечебной практике.

В отличие от известных ранее способов получения материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, способ в соответствии с настоящим изобретением позволяет реализовать феномен миграции β -клеток посредством создания необходимых условий для протекания этого процесса, причем полученный материал отвечает требованиям, предъявляемым к материалам, предназначенным для трансплантации. При осуществлении способа в соответствии с настоящим изобретением исключаются операции, травмирующие β -клетки, а именно центрифугирование, обработка на магнитном размешивателе, и операция, присущая ближайшему аналогу, – обработка ферментом для растворения коллагеновых волокон. В соответствии с настоящим изобретением удается обеспечить высвобождение более 90% β -клеток, содержащихся в исходной поджелудочной железе, что было невозможно ни по одному известному ранее способу.

Пример реализации способа получения материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, и собственно материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, полученный этим способом.

Для получения материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, может быть использована поджелудочная железа млекопитающих, новорожденных млекопитающих или их плодов. Имеющийся опыт показывает, что возможно использование поджелудочной железы крупного рогатого скота и их плодов, а также лошадей и свиней, плода человека, но наиболее доступным и дешевым материалом является поджелудочная железа новорожденных кроликов.

Для получения материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, извлекают поджелудочную железу, например, новорожденного кролика, и помещают ее в холодный раствор Хенкса с добавлением антибиотиков. Вынув железу из раствора, удаляют ее капсулу и прослойки соединительной ткани с крупными разветвлениями выводных протоков и кровеносными сосудами. Декапсулированную железу измельчают до микрофрагментов размером до 1 мм и вновь промывают раствором Хенкса с добавлением антибиотиков. Полученным материалом засевают культуральные матрасы, куда добавляется культуральная (рос-

товая) среда и сыворотка млекопитающих. В качестве сыворотки может быть использована сыворотка крупного рогатого скота. Затем засеянные культуральные матрасы помещают в термостат, где обеспечивают режим, при котором β -клетки свободно мигрируют из культивируемых фрагментов поджелудочной железы на дно культурального матраса, для чего осуществляют инкубацию при постоянной температуре, находящейся в диапазоне

35 – 40° С, в течение от двух суток до шести недель, при этом однократно или несколько раз снижают температуру в зависимости от необходимости (за культурой ведется микроскопический

контроль) до 4 – 25° С, и выдерживают определенное время при пониженной температуре. Длительность выдержки определяется экспериментально для конкретного вида культуры β -клеток. Для получения высококачественного материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, производят временное однократное или периодически повторяющееся снижение концентрации сыворотки. Время выдержки при пониженной концентрации сыворотки также определяется экспериментально для конкретного вида культуры

β -клеток. Сбор β -клеток производится посредством клеточного скребка, которым β -клетки удаляются со дна культурального матраса. Полученный материал может быть использован для трансплантации непосредственно после сбора или сохранен достаточно длительное время до операции при пониженной температуре или с помощью замораживания.

Способ лечения сахарного диабета, преимущественно, инсулинозависимого, осуществляют с использованием материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, полученного с использованием феномена миграции β -клеток. Как указывалось выше, выбор способа введения β -клеток может быть различным, то есть материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы, может быть трансплантирован в различные органы и ткани: внутримышечно, в частности, в прямую мышцу живота, в печень (в паренхиму или через воротную вену или ее ветви), в пульпу селезенки, в селезеночную артерию, в полость брюшины, в специально создаваемый мышечный карман, в большой сальник.

Самым простым по технике исполнения и наименее травматическим для больного является введение материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, полученного с использованием феномена миграции, посредством шприца в прямую мышцу живота.

Пример 1. Больной А, 34 лет, поступил в клинику с жалобами на общую слабость, боли и чувство онемения в ногах, частые (до 3 – 4 раз в неделю) гипогликемические состояния, нередко сменяющиеся появлением сильной жажды, сухости во рту,

а также снижением аппетита, тошнотой. Инсулинозависимый сахарный диабет выявлен 8 лет назад (в 26-летнем возрасте), в последнее время течение диабета приобрело весьма лабильный характер, что сделало практически невозможным проведение адекватной инсулинотерапии и резко снизило работоспособность больного. При настоящем стационарном обследовании выявлены резкие колебания концентрации глюкозы в крови (от 5,6 до 17,1 ммоль/л). За время 2-недельного наблюдения трижды регистрировались выраженные гипогликемические состояния, одно из них быстро перешедшее в кому, из которой больного с большим трудом удалось вывести. Отмечалась склонность к развитию кетоацидоза (возникали характерные жалобы, появлялись запах ацетона в выдыхаемом воздухе, кетонурия). После проведения необходимой коррекции доза вводимого инсулина составила 52 ед./сут. Через 2 недели после госпитализации больному была выполнена внутримышечная (в прямую мышцу живота) трансплантация материала, содержащего бета-клетки, полученного описанным выше способом из поджелудочной железы новорожденных кроликов. Уже через 2 – 3 недели после пересадки у больного стабилизировался уровень гликемии – в пределах 7,7 – 11,2 ммоль/л в течение суток. В дальнейшем (на протяжении 14-месячного наблюдения) гипогликемические явления не беспокоили больного, не было ни одного эпизода кетоацидоза. Потребность во вводимом инсулине снизилась через 1 мес. после трансплантации – до 32 ед./сут. (на 38%), через 3 мес. – до 24 ед./сут. (соответственно на 38% и 54% по сравнению с дотрансплантационной дозой). К окончанию 14-месячного наблюдения потребность в экзогенном инсулине составляла 36 ед./сут. е. оставалась сниженной по сравнению с дотрансплантационной на 35%. При этом состояние ранее нарушенного углеводного обмена практически нормализовалось, о чем свидетельствовало снижение содержания гликозилированного гемоглобина с 14,1% перед трансплантацией до 10,0% – через 3 мес., 8,4% – через 6 мес. и 8,8% – через 12 мес. после нее. Помимо стабилизации течения диабета было отмечено лечебное воздействие ксенотрансплантации материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, на прогрессировавшее у больного позднее осложнение – диабетическую полинейропатию. Характерные для этого осложнения боли в ногах и парестезии стали ослабевать уже через 2 – 3 недели после пересадки и полностью перестали беспокоить спустя 2 месяца. При этом нормализовалась ранее сниженная скорость проведения импульса по двигательным нервам. Стойкое исчезновение признаков диабетической полинейропатии отмечалось, по меньшей мере, в течение 1,5 лет после трансплантации материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы.

Следующий клинический пример иллюстрирует влияние трансплантации материала, содержащего

бета-клетки поджелудочной железы, полученного из поджелудочной железы новорожденных кроликов описанным выше способом, на течение других часто встречающихся поздних осложнений сахарного диабета – ретинопатии и нефропатии.

Пример 2. Больная Б. Ж., 26 лет. Сахарный диабет (инсулинозависимый) выявлен 15 лет назад (в 11-летнем возрасте). С самого начала заболевание приобрело неустойчивый, лабильный характер, что не позволяло обеспечивать стойкую компенсацию нарушенного углеводного обмена, несмотря на применение различных вариантов инсулинотерапии. В последние годы диабет стал протекать более стабильно, но появились клинические признаки поздних диабетических осложнений – ретинопатии и нефропатии. Особенно бурно прогрессировали патологические изменения на глазном дне: при обследовании перед трансплантацией была диагностирована пролиферативная диабетическая ретинопатия обоих глаз. Основными проявлениями диабетической нефропатии были протеинурия (до 1 г/л/сут.) и умеренная артериальная гипертензия. Внутримышечная трансплантация материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, полученного из поджелудочной железы новорожденных кроликов, существенно изменила клиническое течение сахарного диабета у больной. Так, значительно снизилась потребность в экзогенном инсулине: с дотрансплантационных 32 ед. до 20 ед. через 2 недели после пересадки, до 12 ед. через 4 недели и до 4 – 6 ед. – к исходу 2-го месяца. Столь низкая доза вводимого за сутки инсулина (сниженная на 81 – 88% по сравнению с дотрансплантационной) сохранялась на протяжении почти полугода, после чего постепенно потребность в экзогенном инсулине повысилась, достигнув к 10 – 11 месяцу после трансплантации 22 ед. (меньше по сравнению с потребностью перед пересадкой на 31%). Сниженная доза вводимого инсулина сохранялась по меньшей мере на протяжении 16 месяцев после трансплантации материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы. Особо следует отметить результаты воздействия проведенной пересадки на течение поздних осложнений диабета у больной. Существенно улучшилась клиническая картина глазного дна: произошло рассасывание преретинальных кровоизлияний, истончение и инволюция фиброзных пролифератов, запустевание новообразованных кровеносных сосудов. Позитивное влияние трансплантации на течение диабетической нефропатии заключалось в стойком исчезновении протеинурии и нормализации артериального давления.

Таким образом, использование материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, полученного с использованием феномена их миграции для трансплантации, позволит существенно повысить эффективность операции, упростить получение и снизить себестоимость этого материала, что в свою очередь является предпосылкой для

широкого внедрения этого способа лечения са-

харного диабета.

Формула изобретения

1. Способ получения материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы, для трансплантации больным сахарным диабетом, заключающийся в использовании в качестве исходного материала поджелудочной железы млекопитающего, при этом извлеченную поджелудочную железу промывают, разрезают на микрофрагменты и засевают полученным материалом культуральные матрасы, добавляя культуральную (ростовую) среду и сыворотку млекопитающих, после чего осуществляют инкубацию в термостате при постоянной температуре с последующей выдержкой при более низкой температуре, отличающийся тем, что для извлечения бета-клеток из фрагментов поджелудочной железы обеспечивают режим, при котором бета-клетки свободно мигрируют из культивируемых фрагментов на дно культурального матраса, для чего осуществляют ин-

кубацию при постоянной температуре 35–40° С в течение от двух суток до шести недель с однократным или многократным снижением температуры

до 4–25° С и выдержкой при этой температуре, а также с однократным или периодическим снижением концентрации сыворотки млекопитающих, затем собирают бета-клетки со дна культурального матраса и получают материал для трансплантации.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что для промывания поджелудочной железы используют холодный раствор Хенкса с добавлением антибиотиков.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что перед измельчением поджелудочной железы удаляют капсулу железы и прослойки соединительной ткани с крупными разветвлениями выводных протоков и кровеносными сосудами.

4. Материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы, для трансплантации больным сахарным диабетом, полученный из поджелудочной железы млекопитающего, отличающийся тем, что он получен способом по п. 1.

5. Способ лечения сахарного диабета путем трансплантации бета-клеток поджелудочной железы млекопитающих, отличающийся тем, что проводят трансплантацию материала, содержащего бета-клетки поджелудочной железы для трансп-

лантации больным сахарным диабетом по п. 4, полученного с использованием феномена их миграции.

6. Способ по п. 5, отличающийся тем, что материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, трансплантируют внутримышечно.

7. Способ по п. 5, отличающийся тем, что материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, трансплантируют в прямую мышцу живота.

8. Способ по п. 5, отличающийся тем, что материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, трансплантируют в паренхиму печени.

9. Способ по п. 5, отличающийся тем, что материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, трансплантируют через воротную вену или ее ветви.

10. Способ по п. 5, отличающийся тем, что материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, трансплантируют в пульпу селезенки.

11. Способ по п. 5, отличающийся тем, что материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, трансплантируют в полость брюшины.

12. Способ по п. 5, отличающийся тем, что материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, трансплантируют в большой сальник.

13. Способ по п. 5, отличающийся тем, что материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, трансплантируют в селезеночную артерию.

14. Способ по п. 5, отличающийся тем, что материал, содержащий бета-клетки поджелудочной железы для трансплантации больным сахарным диабетом, трансплантируют в специально созданный мышечный карман.